FACULTÉ MIXTE
DE
MEDECINE GENERALE ET COLONIALE ET DE PHARMACIE
DE MARSEILLE

93

Etude comparative du pouvoir inhibiteur de divers antiseptiques vis-à-vis des champignons et des Bactéries

ESSAI D'APPLICATION A LA RECHERCHE D'UN MILIEU d'ISOLEMENT pour les CHAMPIGNONS DERMATOPHYTES

THESE

présentée et publiquement soutenue devant la Faculté Mixte de Médecine Générale et Coloniale et de Pharmacie de Marseille

Le 12 Juillet 1951

PAR

Guy LE HÉNAFF
né le 3 Juillet 1926, à Arzano (Finistère)
Elève de l'École du Service de Santé Militaire
Diplômé de Médecine Tropicale
Diplômé d'Hygiène

POUR OBTENIR LE GRADE DE DOCTEUR EN MÉDECINE

Examinateurs de la Thèse	MM. DERRIEN,	Président
	MM. CHARPY	Assesseurs
	RECORDIER	
	RANQUE	

IMPRIMERIE SAINT-LÉON
78, Rue Stanislas-Torrents
MARSEILLE

1951

ETUDE COMPARATIVE DU POUVOIR INHIBITEUR DE DIVERS ANTISEPTIQUES VIS-A-VIS DES CHAMPIGNONS ET DES BACTERIES

Essai d'application à la recherche d'un milieu d'isolement pour les champignons dermatophytes

FACULTÉ MIXTE
DE
MEDECINE GENERALE ET COLONIALE ET DE PHARMACIE
DE MARSEILLE

Etude comparative du pouvoir inhibiteur de divers antiseptiques vis-à-vis des champignons et des Bactéries

ESSAI D'APPLICATION A LA RECHERCHE D'UN MILIEU d'ISOLEMENT pour les CHAMPIGNONS DERMATOPHYTES

THESE

présentée et publiquement soutenue devant la Faculté Mixte de Médecine Générale et Coloniale et de Pharmacie de Marseille

Le 12 Juillet 1951

PAR

Guy LE HÉNAFF
né le 3 Juillet 1926, à Arzano (Finistère)
Elève de l'École du Service de Santé Militaire
Diplômé de Médecine Tropicale
Diplômé d'Hygiène

POUR OBTENIR LE GRADE DE DOCTEUR EN MÉDECINE

Examinateurs de la Thèse	MM. DERRIEN,	Président
	MM. CHARPY	Assesseurs
	RECORDIER	
	RANQUE	

IMPRIMERIE SAINT-LÉON
78, Rue Stanislas-Torrents
MARSEILLE

1951

PERSONNEL ENSEIGNANT
DE LA FACULTÉ MIXTE DE MÉDECINE GÉNÉRALE ET COLONIALE ET DE PHARMACIE DE MARSEILLE

Doyen : L. CORNIL — *Assesseur :* G. MORIN

Doyen Honoraire : L. IMBERT

Professeurs Honoraires MM. GAUJOUX, AUBARET, AUDIBERT, JOYEUX, OLMER, ROCHE, GABRIEL, HECKENROTH

Chargé de Cours Honoraires : M. TIAN

Secrétaire : J. COMTE — *Bibliothécaire :* Mlle PERRIN

Professeurs

Anatomie	N...
Anatomie Pathologique et Carcinologie Clinique	CORNIL
Bactériologie et Pathologie Générale	POURSINES
Chimie Analytique et Hydrologie	RIMATTEI
Chimie Médicale	DERRIEN
Clinique Chirurgicale	FIOLLE
Clinique Chirurgicale	MOIROUD
Clinique Chirurgicale Infantile et Orthopédique	SALMON
Clinique Chirurgicale Thérapeutique et Chirurgie Expérimentale	DE VERNEJOUL
Clinique Dermatosyphiligraphique	CHARPY
Clinique Exotique	BLANC
Clinique des Maladies Nerveuses	ROGER
Clinique Médicale	MATTEI
Clinique Médicale	POINSO
Clinique Médicale Thérapeutique	J. OLMER
Clinique des Maladies des Voies Digestives et de la Nutrition	MONGES
Clinique Médicale Infantile	GIRAUD
Clinique Obstétricale et Gynécologie	VAYSSIERE
Clinique Ophtalmologique	JAYLE
Clinique Oto-Rhino-Laryngologique et Maxillo Faciale	BREMOND
Clinique Urologique	CHAUVIN
Histoire Naturelle	BALANSARD
Histologie	ROMIEU
Hygiène et Médecine Préventive	VIOLLE
Médecine Légale et Médecine du Travail	MOSINGER
Parasitologie	SAUTET
Pathologie Chirurgicale	CARCASSONNE
Pharmacodynamie et Matière Médicale	F. MERCIER
Pharmacie Chimique et Toxicologie	VIGNOLI
Pharmacie Galénique	DELPHAUT
Physiologie	MORIN
Physique Médicale	DUBOULOZ
Stomatologie	BELTRAMI
Thérapeutique	PIERI
(Professeur sans chaire)	ARNOUX

R. BRIN BINDERIE LEDRU

Agrégés libres

MM. BERTHIER
AUDIER
BRAHIC
CHOSSON
DOR
MM. FIGARELLA
IMBERT
PAILLAS
RECORDIER

Agrégés en exercice

MM. BERNARD
GRANJON
GRISOLI
HENRY
JOUVE
LAMY
LAVAL
MM. LENA
MONGES Henri
OLLIVIER
OURGAUD
PAOLI
RAYBAUD
VAGUE

Maîtres de Conférence-Agrégés

MM. DONNET
DUMAZERT
GASTAUT
MOURGUE
MM. PELLISSIER
PICARD
RANQUE
ROUX

Chargé des fonctions d'agrégé

Pharmacodynamie et Matière Médicale ..... J. MERCIER

A LA MEMOIRE DE MES GRANDS-PARENTS

A MES PARENTS

En témoignage de toute ma tendresse et de ma reconnaissance infinie.

A MA FIANCEE

AUX MIENS

A TOUS MES AMIS

A Monsieur le Professeur DERRIEN

Nous le remercions du grand honneur qu'il nous fait en présidant notre thèse.

A Monsieur le Professeur CHARPY

A Monsieur le Professeur RECORDIER

A Monsieur le Professeur RANQUE

qui nous a dirigé dans le choix et la mise au point de ce travail. Nous sommes heureux de lui exprimer notre profonde gratitude.

Au Médecin Commandant RAOULT
Professeur agrégé du Service de Santé des Troupes Coloniales

Il nous a guidé avec bienveillance dans nos débuts en Pathologie Tropicale. Qu'il trouve ici l'expression de notre profonde reconnaissance.

A mes maîtres des Facultés de Lyon et de Marseille.

A mes maîtres des Hôpitaux civils et militaires

A mes camarades
de l'Ecole du Service de Santé Militaire
et du détachement de Marseille

Introduction

Le principal écueil rencontré dans la culture des champignons dermatophytes, isolés des lésions cutanées ou des cheveux teigneux est la souillure fréquente des milieux par des Bactéries (Staphylocoque et Bacillus Subtilis), des Levures, et des champignons appartenant aux genres Penicillium ou Sterigmatocystis.

Ces microorganismes envahissent tôt ou tard les souches mycosiques, en modifient les caractères, le mode de croissance, et finissent par les détruire.

Pour pallier à ces inconvénients, on peut :

— soit rendre aseptique le matériel à étudier avant son ensemencement, par l'utilisation du pouvoir bactéricide de divers produits antiseptiques ;

— soit réaliser un milieu idéal qui, tout en permettant la culture du champignon à isoler, empêche le développement des souillures. Les Bactériostatiques qui entravent la multiplication de certains germes et quelques antiseptiques qui, à doses modérées, ont un simple pouvoir inhibiteur sur les éléments de souillure, peuvent être utilisés pour parvenir à ce but.

Divers essais ont été tentés avec des produits très variés, mais l'expérience montre :

1° Que les antiseptiques à doses bactéricides ont une action le plus souvent trop brutale pour obtenir cette sélection ;

2° Que les Bactériostatiques sont relativement peu stables lorsqu'ils sont inclus dans un milieu de culture. Leur délai d'efficacité ne permet donc pas d'attendre le « démarrage » du dermatophyte.

C'est donc vers l'utilisation du pouvoir inhibiteur de divers antiseptiques vis-à-vis des microorganismes de

souillure qu'ont été dirigées essentiellement nos recherches.

Pour la réalisation de ce milieu sélectif, il nous a fallu comparer, sur des milieux de culture de même composition, les effets inhibiteurs des produits antiseptiques vis-àvis des champignons d'une part, et des germes de souillure de l'autre.

Notre plan d'étude sera le suivant :

Après avoir rappelé les tentatives effectuées par de nombreux auteurs pour obtenir des souches pures de Dermatophytes, nous indiquerons les procédés que nous avons été amené à vérifier ou à imaginer.

Ces essais ont été entrepris avec un matériel que nous définirons dans un second chapitre par ses caractères principaux.

Nous décrirons ensuite la technique générale suivie au cours de notre expérimentation, et nous mentionnerons les résultats obtenus avec les divers produits étudiés.

Chaque expérience comportera une étude comparative du pouvoir inhibiteur du corps utilisé vis-à-vis des champignons et vis-à-vis des germes de souillure, afin d'établir des seuils différents. Le second terme de cette comparaison nous sera donné par des documents puisés dans la littérature concernant les antiseptiques, et par nos vérifications personnelles.

Des conclusions générales que nous avons cru pouvoir tirer de ces différents essais terminent notre exposé.

Nous avons effectué ce travail au Laboratoire de Parasitologie de la Faculté de Marseille à l'occasion de l'ensemencement de nombreux cheveux teigneux envoyés d'Afrique du Nord.

Nous tenons à remercier M. le Professeur agrégé J. Ranque qui nous a, à tout instant, guidé dans ce travail, et n'a cessé de nous prodiguer ses conseils techniques et ses encouragements. Nous le prions de bien vouloir trouver ici l'expression de notre profonde reconnaissance.

CHAPITRE PREMIER

Essais antérieurement entrepris

Nous avons vu dans l'introduction qu'ils peuvent être classés en deux catégories suivant qu'ils aseptisent le cheveu ou qu'ils visent à réaliser un milieu de culture spécifique pour le champignon.

Pour la première catégorie, nous retiendrons les méthodes suivantes :

— E. MELIN débarrasse des bactéries le matériel à ensemencer par l'emploi d'un désinfectant utilisé dans les brasseries : l' « Activine » (p. Toluolsulfochloramide sodique) dont il fait une solution à 0,5 % ou 1 %. Il suffit d'y plonger pendant une minute le matériel à désinfecter.

— CARPENTIER, GUILLOT et COURTADE préconisent un passage rapide dans le Lactophénol avant l'ensemencement sur milieu de Sabouraud.

— LANGERON immerge les poils dans l'alcool à 70° pendant 1 à 2".

— Mlle MALHURET utilise une solution de 100.000 U.O. de pénicilline (1).

— POENARU pour les teignes animales propose un contact de cinq heures des poils avec une solution de potasse à 30 % avant l'ensemencement.

(1) S'agit-il d'une action bactéricide brutale, étant donné la forte concentration de l'antibiotique ou d'une imprégnation de pénicilline qui permettra une action bactériostatique ultérieure lorsque le cheveu sera ensemencé ?

Pour les essais de la seconde catégorie :

— D.L. FARLEY en 1920 utilise le violet de gentiane dans les milieux ordinaires à des concentrations de l'ordre de 1/500.000.

— J.W. CHURCHMAN emploie le même colorant à des doses de l'ordre de 1/100.000 à 1/2.000.

— MOORE remarque l'action antiseptique des colorants dérivés du Triphenylmethane.

— BOXHALL, HAPPOLD et LOYD utilisent dans les cultures de flagellés d'insectes, le Quinanil dérivé de la Quinoleine. Ce produit agissant à des concentrations de 1/10.000 à 1/50.000. Cet antiseptique pourrait a priori s'appliquer aux cultures de teignes. Nous avons expérimenté le Sulfate Neutre d'O. Oxyquinoleine, produit de la même famille que le Quinanil.

— T.L. CH'IN ajoute au milieu de Sabouraud 0,015 pour 100 de Tellurite de Potassium ou 0,05 % de Sulfate de Cuivre.

— POENARU propose pour les teignes animales l'adjonction de 10 à 15 gouttes d'une solution de potasse à 30 % par tube de culture.

Ces différentes méthodes, assez incommodes, ne sont guère employées en pratique

Les antiseptiques modernes nous donneront-ils le moyen de réaliser des cultures pures ?

CHAPITRE DEUXIEME

Matériel utilisé

Nous étudierons successivement, les champignons, les souillures, le milieu de culture, les antiseptiques utilisés.

1° CHAMPIGNONS DERMATOPHYTES

Nous avons choisi des espèces dans des groupes fort différents les uns des autres, parmi les dermatophytes les plus répandus.

Le Sabouraudites audouini ;

Le Trichophyton violaceum ;

Le Trichophyton (Achorion) schonleini.

Ces champignons de diverses provenances (Afrique du Nord et Métropole) ont été isolés au Laboratoire de Parasitologie de la Faculté et identifiés par les caractères suivants :

a) Sabouraudites audouini :

Microscopiquement (cultures sur lames) : microconidies portées par des rameaux courts, fuseaux assez nombreux en navette, jaunâtres ; vrilles rares et courtes.

En culture, sur gélose il présente au début un bouton centrant un disque de duvet blanc. Il envahit très rapidement toute la surface du milieu et son aspect se modifie : le léger duvet blanc du début est remplacé par un duvet plus court et plus serré grisâtre puis brunâtre.

Rappelons qu'en clinique il donne la teigne scolaire ou teigne tondante microsporique infantile ou teigne de Gruby-Sabouraud, particulièrement fréquente en Europe. On lui doit aussi parfois chez l'homme, une teigne de la barbe.

b) **Trichophyton violaceum :**

Isolé par BODIN en 1902, ce champignon circum-méditerranéen dont le domaine s'étend à l'Est tout autour de la Mer Noire, semble prendre une expansion de plus en plus grande vers le Nord et l'Est. C'est pratiquement l'unique Trichophyton d'Afrique du Nord ; atteint surtout les Israélites.

Microscopiquement : micronidies assez rares ; quelques fuseaux tronqués ; pas de vrilles.

En culture sur gélose il pousse, en donnant des petites élevures parfois disposées en grappes et aboutissant finalement à des colonies plates, glabres, légèrement humides dont la pigmentation est très variable allant du violet aubergine au blanc presque pur.

Rappelons qu'en clinique on lui doit des manifestations très variées : Tondante endothrix à cheveux courts, godets, sycosis, herpès circiné, onychomycoses, épidermomycoces chroniques et parfois des lésions tuberculoïdes par inclusion sous le derme de poils parasités.

c) **Trichophyton (Achorion) schonleini :**

Etudié par LEBERT en 1843, il fut appelé Achorion. En 1942 LANGERON le classe dans les Favo-Trichophyton.

Microscopiquement : morphologie très pauvre. Se présente dans les cheveux sous forme mycélienne et sous forme sporulée. La forme mycélienne est représentée par des filaments rectilignes, cloisonnés, séparés, dirigés suivant le grand axe du cheveu. La forme sporulée est représentée par des filaments onduleux siégeant de préférence dans la partie corticale du poil.

En culture sur gélose ; se présente au début sous l'aspect d'une petite calote irrégulière qui par la suite se contourne, se replie pour finalement prendre l'aspect que l'on a comparé à celui d'une éponge ou d'une morille tandis que sa couleur passe du blanc pur à une teinte bistre. Les colonies sont boursoufflées, spongieuses, superficielles, glables, surélevées.

Rappelons qu'en clinique il donne la teigne favique du cuir chevelu et de nombreuses autres localisations (peau, ongles, etc...).

Ces trois champignons très différents les uns des autres sont plus ou moins résistants à la thérapeutique. Il sera intéressant de comparer leurs seuils inhibiteurs.

2° SOUILLURES UTILISEES

Elles sont de différentes natures :

a) **Staphylocoque :** C'est de loin la souillure la plus fréquente. Nous avons expérimenté les antiseptiques sur le Staphylocoque doré (Staphylococcus aureus). Il donne sur lès géloses des petites colonies circulaires, confluentes de couleur crème. Amené par le cheveu lors de son ensemencement, il prend un développement très rapide sur les géloses.

b) **Bacillus Subtilis :** Germe saprophyte universellement répandu dans la nature ; proliférant en aérobiose sur les milieux de culture. On l'obtient aisément en laissant à une température de 37° un brin de foin dans du bouillon de culture. Il se forme un épais voile blanchâtre à la surface du milieu.

c) **Levures :** Très résistantes à tout agent antiseptique, elles affectionnent particulièrement les milieux sucrés.

Nous avons utilisé Candida albicans, anciennement appelée Oïdium ou Monilia albicans. Elle fut découverte en 1853 par Ch. Robin.

En culture elle donne un aspect crémeux ; très fixée sur la gélose, sa surface est irrégulièrement tourmentée.

En clinique, lorsque de saprophyte elle devient pathogène elle donne le Muguet.

d) **Champignons du genre Penicillium :**

Ce sont les moisissures banales développant leur tapis mycélien sur diverses substances avec une prédilection très marquée pour les milieux sucrés.

Nous avons choisi pour notre étude le Penicillium glaucum qui est le plus répandu. Il donne un mycélium

épais à longs filaments et de coloration grisâtre parfois verdâtre.

Ces trois dernières souillures ne seront utilisées qu'avec l'antiseptique qui se révèlera le plus conforme à notre but. Elles sont bien moins fréquentes que le Staphylocoque.

3° MILIEU DE CULTURE UTILISE

Nous nous servirons du milieu d'épreuve classique de Sabouraud: gélose sucrée à 6 % de glucose. C'est le milieu idéal de développement des champignons pour leur isolement.

Les tubes contiennent 6 cc. de gélose de Sabouraud.

4° ANTISEPTIQUES UTILISES

Nos essais ont porté sur trois antiseptiques :

a) **Le Formol** ou Aldéhyde formique, très anciennement connu et dont la valeur antiseptique n'est plus à démontrer. Il nous fournira un terme de comparaison pour les deux autres produits. Nous avons utilisé le Formol du commerce à 40 %.

b) **Le Sulfate Neutre d'O. Oxyquinoleine** : De découverte plus récente. Nous utiliserons une solution hydroglycérinée à 33 % (1).

c) **L'Acide Ethylmercurithiosalicylique et ses sels** : Connu en Amérique depuis une trentaine d'années, sous le nom de Merthiolate, il n'est employé et apprécié en France que depuis très peu de temps (2).

Nous avons utilisé une solution à 1/1.000.

Nous donnerons de plus amples renseignements sur ces produits aux différents chapitres que nous leur consacrerons.

---

(1) Ce produit est spécialisé en France, sous le nom de Sunoxol.

(2) Ce produit est spécialisé en France sous le nom de Merseptyl.

CHAPITRE III

Technique employée

Elle est très simple. Basée sur la méthode des dilutions, elle ne demande pas de matériel spécial. Nous avons opéré de la même manière pour les trois antiseptiques.

Nous envisagerons successivement la façon de procéder dans la recherche du seuil inhibiteur des champignons puis des souillures.

PRINCIPE DE LA METHODE

Cette méthode de dilution consiste à introduire dans les milieux de culture, des quantités décroissantes de produit inhibiteur et à noter la dose limite pour laquelle le matériel ensemencé ne pousse plus.

1° **Recherche du seuil inhibiteur sur les champignons:**

Elle se fait en plusieurs étapes :

a) Constitution de la gamme des milieux de culture :

Dans des tubes stériles, nous répartissons aseptiquement 6 cc. de gélose sucrée de Sabouraud, et nous préparons d'autre part avec de l'eau distillée stérile une gamme de dilutions de plus en plus fortes du produit antiseptique.

Nous avons établi deux gammes de dilution réalisant chacune une progression arithmétique.

La première partant de la solution mère du commerce ;

La deuxième partant d'une solution au 1/10 de cette solution commerciale.

Cette façon de procéder nous a permis de calculer d'abord approximativement puis de façon plus précise le seuil recherché.

Nous avons donc les solutions suivantes :

1/1 1/2 1/4 1/8 .... 1/128
1/10 1/20 1/40 1/80 .... 1/1280

Nous ajoutons ensuite aux 6 cc. de gélose préalablement liquéfiée au bain-marie, 1/10 de cc. de ces diverses solutions. Ce qui nous donne les taux d'antiseptiques suivants :

1/60 1/120 1/240
1/600 1/1200 1/2400

Les solutions commerciales ayant une concentration différente en produit actif, suivant les antiseptiques, nous obtiendrons le chiffre définitif par un calcul très simple. C'est ce chiffre qui figurera dans les tableaux que nous dresserons pour les résultats de nos expériences.

Les géloses ainsi additionnées d'antiseptique sont déposées sur une règle où elles se solidifient. Notre gamme de géloses inclinées est donc réalisée.

Pour chaque dilution nous ensemencerons deux tubes. Nous y joindrons deux tubes témoins dépourvus d'antiseptique.

b) **Ensemencement des champignons :**

A l'aide d'un vaccinostyle monté sur tige, soigneusement rougi à la flamme puis refroidi, nous découpons dans une culture souche un petit fragment que nous ensemençons sur les géloses. Ce prélèvement aisé pour le T. violaceum, l'est beaucoup moins pour le S. audouini et pour le T. (Achorion) schonleini qui se laissent difficilement morceler.

Il faut prendre soin de bien inclure le fragment dans le milieu et de manipuler aseptiquement. Les tubes ensemencés sont bouchés au coton et prêts au développement des champignons.

c) **Mise à l'étuve et surveillance :**

La température de l'étuve sera réglée à 25°. Elle doit être bien fixée. Cette température optima n'est indispensable que pour le « démarrage » des cultures. Par la suite, les tubes pourront être laissés à la température du laboratoire.

La surveillance des tubes nous permettra de constater les retards, les modifications dans le mode de croissance par rapport aux tubes témoins dépourvus de tout antiseptique.

Le délai s'écoulant entre l'ensemencement et les premières manifestations de la croissance, varie énormément d'un tube à l'autre. Les champignons se montrent très capricieux mais en moyenne nous avons pu constater :

Que le S. audouini commence à croître vers le 3me ou 4me jour ;

Le T. violaceum comporte les mêmes délais ;

L'Achorion schonleini est le plus irrégulier ; tantôt précoce (3me jour), tantôt paresseux (8me jour).

Les cultures prennent rapidement leur aspect typique que nous avons décrit antérieurement. La vitesse d'extension est très variable et paraît influencée par la présence de l'antiseptique. Nous noterons les résultats de nos observations ultérieurement.

2° Recherche du seuil inhibiteur pour les souillures :

Nous avons procédé sur les mêmes milieux que pour les champignons (gélose glucosée à 6 %). Cette façon de faire nous est dictée par le but que nous poursuivons. La technique d'ensemencement varie suivant les souillures.

Pour les bactéries (Staphylocoque et B. Subtilis) et les Levures, nous prélevons quelques colonies et nous les émulsionnons dans 2 cc. d'eau distillée ou physiologique stérile. Nous déposons ensuite deux gouttes de cette émulsion au haut des géloses ; nous laissons les tubes inclinés presque à l'horizontale afin de permettre

au liquide de s'étaler lentement sur toute la surface des milieux. Les germes se déposent et au bout d'une heure nous verticalisons les tubes, pour les mettre à l'étuve : à 37° pour les bactéries, à 25° pour les Levures.

Les colonies apparaissent 24 à 48 heures après l'ensemencement : circulaires et de couleur crème pour le Staphylocoque ; pellicule blanchâtre et plissée, recouvrant rapidement toute la surface du milieu pour le B. Subtilis.

Pour les champignons du genre Penicillium, la technique est la même que pour les dermatophytes. Nous prélevons dans une souche, en râclant la surface de la culture, un fragment du thalle et nous le déposons sans l'inclure sur les géloses inclinées. 24 heures à l'étuve à 25° suffisent pour amener le développement de ce champignon très prolifique.

Nous avons maintenant tous les éléments nécessaires pour commencer nos expériences.

Pour chaque antiseptique, nous envisagerons successivement :

— Quelques notions physiques, chimiques et biologiques ;

— Les recherches déjà entreprises sur leur pouvoir inhibiteur ;

— Nos expériences personnelles ;

— Quelques remarques sur les résultats obtenus.

CHAPITRE IV

Expériences avec le Formol

Le Formol est trop connu pour que nous insistions sur ses propriétés. Nous allons simplement rappeler quelques notions essentielles sur ce produit et les résultats que nous avons obtenus dans nos expériences personnelles. Ils serviront de terme de comparaison pour les autres antiseptiques.

1° Notions générales sur le Formol :

L'aldéhyde formique désigné encore sous les noms de Formol, Formaline, Aldéhyde méthylique et Méthanol a pour formule :

H-CHO

C'est un gaz d'odeur piquante, lacrymogène, dont les formes courantes sont, soit une solution à 40%, soit un polymère solide, le polyoxyméthylène régénérant l'aldéhyde par simple chauffage.

A froid, en solution concentrée, le formol se polymérise rapidement en un trimère, le Trioxyméthlène (H—CHO) 3. L'évaporation des solutions de Formol conduit à un autre polymère, le Paraformaldéhyde (H—CHO) 6H20, employé par les hygiénistes sous le nom de Trioxyméthylène. Ces polymères chauffés à sec donnent naissance à des vapeurs d'aldéhyde formique.

Antiseptique très puissant et largement utilisé depuis la découverte de son action bactéricide par Trillat en 1884.

Le pouvoir inhibiteur du Formol en milieu liquide, est en moyenne pour tous les auteurs, de 1/4.000 pour le Staphylocoque doré.

Il ne semble pas avoir été recherché sur les champignons.

2° Expériences personnelles :

Nous avons utilisé la solution à 40 % du commerce, Ce sont les concentrations des géloses en formol du commerce que nous ferons figurer dans nos tableaux.

1. Nous avons d'abord cherché à limiter nos recherches en calculant le seuil inhibiteur approximatif sur le S. audouini et le T. violaceum.

Dans une série doublée de géloses, aux taux suivants 1/120. 1/60. 1/15, nous n'avons constaté aucun développement du champignon.

2. Il nous restait donc à rechercher ce seuil dans des concentrations moins fortes, et nous avons obtenu les résultats figurant au tableau.

3. Pour vérifier ces résultats, nous avons fait plusieurs essais aux concentrations voisines du seuil précédemment trouvé.

4. Quatre ensemencements ont été pratiqués pour le Staphylocoque.

Dans toutes nos expériences, nous avons doublé les tubes à chaque concentration.

Commentaires : Nous avons constaté dans ces expériences portant sur 244 ensemencements au total :

1. Que le seuil inhibiteur est obtenu d'une façon relativement nette ; le développement du S. audouini et du T. (achorion) schônleini est arrêté vers 1/240. Vers 1/600 pour le T. violaceum et le staphylocoque.

2. Que les cultures ont un aspect macroscopique apparemment normal malgré la présence de l'antiseptique. Tout au plus peut-on noter un léger ralentissement dans l'extension de la souche aux taux voisins du seuil.

3. Que pour le T. (achorion schônleini) nous avons eu quelques difficultés à fixer le seuil.

4. Que le Formol ne convient pas pour la réalisation du milieu d'isolement que nous cherchons, les seuils inhibiteurs étant trop voisins pour les dermatophytes et le staphylocoque.

EXPÉRIENCES AVEC LE FORMOL

— : Aucun développement
± : Développement très faible
+ : Développement normal
. : Recherche non effectuée à ce taux

	Tém.	1/30	1/60	1/120	1/240	1/480	1/600	1/960	1/1200	1/1920	1/2400	1/3840	1/4800	1/7680	1/9600	1/19200
S. Audouini	+	—	—	—	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
	+	—	—	—	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
	+	.	—	—	—	+	.	+	.	+	.	+	.	+	.	.
	+	.	—	—	—	+	.	+	.	+	.	+	.	+		.
	+	.	—	—	—	+	+	+	±	+	+	+	+	.	.	.
	+ +	.	—	—	—	±	+	+	+	+	+	+	+	.	.	
T. violaceum	+	—	—	—	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
	+	—	—	—	.	.	.	.	.	.	.	.		.	.	.
	+	.	—	—	—	—	.	∓	.	+	.	+	.	+	.	.
	+	.	—	—	—	—	.	+	.	+	.	+	.	+	.	.
	+	.	—	—	—	—	±	+	+	+	+	.		.	.	.
	+	.	—	—	—	—	—	+	+	+	+	.		.	.	.
	+	.	—	—	—	—	—	+	+	+	+	+	.	.	.	.
	+	.	—	—	—	—	—	+	+	+	+	+	.	.	.	.
T. (achorion) schonleini	+	.	—	—	—	—	.	+	.	+	.	+	.	+	.	.
	+	.	—	—	—	—	.	—	.	+	.	+	.	+	.	.
	+	.	.	.	.	.	+	.	+	.	+	.	+	.	+	.
	+	.	.	.	.	.	+	.	+	.	+	.	+	.	+	.
	+	.	—	—	—	+	.	+	—	+	.	+	.	+	.	.
	+	.	—	—	—	+	.	+	—	+	.	+	.	+	.	.
	+	.	—	—	—	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	.
	+	.	—	—	—	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	.
Seuil inhibiteur pour les divers auteurs: 1/4000 (en milieu liquide)																
Staphylocoque Expériences personnelles	+	.	—	—	—	—	—	±	+	+	+	+	+	+	+	.
	+	.	—	—	—	—	—	+	+	+	+	+	+	+	+	.
	+	.	—	—	—	—	—	+	+	+	+	+	.	.	.	.
	+	.	—	—	—	—	—	+	+	+	+	+	.	.	.	.

CHAPITRE V

Expériences avec le sulfate neutre d'O.Oxyquinoleine

I. Propriétés générales du Sulfate Neutre d'O. Oxyquinoleine.

1) **Chimie :** Le Sulfate Neutre d'O. Oxyquinoleine a pour formule :

$$(C_9H_6OHN)^2, SO_4H_2$$

Le principe actif de ce corps est la base 8. Oxyquinoleine. L'action bactéricide est indépendante de l'acide qui salifie la base oxyquinoléine et la rend soluble dans l'eau. Mais Van Winkele et W. Christiansen en 1929 ont montré que les sels formés avec les acides citrique et sulfurique sont plus bactéricides que les autres.

Selon Chavatte le produit français (Sulfate Neutre d'O. Oxyquinoleine) est plus actif que le produit allemand (Sulfate double d'O. Oxyquinoleine et de potasse ou Quinosol), moins riche en base active.

2) *Propriétés physiques :* Le Sulfate Neutre d'O. Oxyquinoléine est une poudre cristalline jaune, non hygroscopique, d'odeur safranée. Il fond à 185° environ au bloc Maquenne.

Il est très soluble dans son poids d'eau, même à froid. De couleur jaune, les solutions aqueuses sont peu altérables, mais le deviennent par contact avec un métal quelconque ou par chauffage prolongé jusqu'à ébullition.

Le pH des solutions à 1/1000 de Sulfate Neutre d'O. oxyquinoleine est 3,9. Cette concentration en ions hydrogène est sans influence coagulante sur les protéines et les tissus musculaires.

Le Sulfate Neutre d'O. Oxyquinoleine est soluble dans la glycérine surtout après dissolution préalable dans son poids

d'eau, soluble dans l'alcool à 70° à raison de 1% après dissolution dans 24 parties d'eau et addition de 70 parties d'alcool à 90°.

Il se dissout aisément dans un mélange alcool-acétone et dans le chloroforme. Il est insoluble dans l'éther et les corps gras, mais on peut disperser la solution hydroglycérinée à 33% dans un excipient quelconque contenant obligatoirement de la lanoline.

3) *Propriétés chimiques :* Dans les solutions aqueuses de ses sels, l'oxyquinoleine est précipitée par l'addition de sels alcalins (carbonate, bicarbonate, borate, acétate de soude) ou de tous les sels constitués par un acide faible et une base forte hydrolysés en zone alcaline de pH 7,2.

Ces solutions aqueuses donnent la réaction des sulfates avec le chlorure de baryum, des précipités colorés avec les sels de métaux lourds : vert jaune avec les sels de cuivre (eau de Dalibour), rose saumon avec les sels de cobalt, bleu vert avec les sels de fer.

II. Résultats des déterminations antérieures de la valeur antiseptique du Sulfate Neutre d'O. Oxyquinoleine.

Chavatte dans sa thèse nous indique que le Sulfate Neutre d'O. Oxyquinoaleine s'avère actif aussi bien sur les parasites animaux que vis-à-vis des agents infectieux du règne végétal, champignons et bactéries. Il remarque également que dans la série des composés organiques hétérocycliques, le Sulfate d'Oxyquinoleine semble être l'antiseptique le plus puissant.

Divers auteurs ont étudié ce pouvoir antiseptique, tant sur les bactéries que sur les champignons.

1° Pouvoir inhibiteur sur les bactéries.

En 1913, Seiffert et Hüne fixent le pouvoir bactériostatique du Quinosol sur le Staphylocoque doré à 1/30.000. Pour le B. d'Eberth le Para. A le Para. B, les bacilles d'Hoffmann et de Löffler à 1/10.000.

En 1922 et 1924, Pérez et De Oliviera constatent qu'un taux de 1/180.000 de Quinosol dans le bouillon de culture empêche le développement des Staphylocoques.

En 1926, Heubner et Siegel avec le Quinosol obtiennent 1/50.000 pour le Staphylocoque et le Streptocoque, 1/20.000 pour le Colibacille.

En 1933, Chavatte trouve que le Sulfate Neutre d'O. Oxyquinoleine empêche le développement de toutes les bactéries à une concentration de 1/20.000.

La même année Mlle Aitoff place ce toux à 1/60.000 pour le Staphylocoque.

Il faut noter que tous ces chiffres précédemment énoncés ont été obtenus en expérimentant sur des bouillons, c'est-à-dire des milieux liquides.

A ce propos, Browning et ses élèves soulignent l'importance des milieux de culture dans l'évaluation du taux infertilisant des différents antiseptiques.

Pour cet auteur, les dérivés de la Quinoleine seraient plus actifs en milieu sérum qu'en milieu peptoné.

En 1935, Gayraud expérimentant sur le Bacille de Lôffler vient confirmer les constatations de Browning. Il insiste aussi sur l'influence de l'état physique du milieu et relate les résultats suivants : Le Sulfate Neutre d'O. Oxyquinoleine empêche le développement du bacille diphtérique à la dose de 1/4.000. en sérum gélifié ; à 1/40.000 en bouillon ordinaire et à 1/10.000 en bouillon glucosé.

Nous rappellerons ici l'essai de culture amicrobienne tenté sur les Flagellés d'insectes par Boxhall Happold et Loyd, avec le Quinanil, dérivé de la Quinoleine à des concentrations de 1/10.000 à 1/50.000. Nous pourrons comparer ce résultat à ceux obtenus avec le Sulfate d'O. Oxyquinoleine sur les teignes.

2° **Pouvoir inhibiteur sur les champignons :**

Il a été étudié par Lortat-Jacob et Bidault au point de vue expérimental et clinique.

Ils recherchèrent d'abord l'action de ce produit sur des champignons voisins des teignes, des champignons banaux. Jusqu'aux taux de 1/20.000 sur bouillon de carotte peptoné, aucun développement n'a pu être

observé. Pour les tuer, il faut une cencentration de 1/400 à 1/100 et une immersion de 12 heures.

En expérimentant sur gélose au lieu de bouillon peptoné le seuil descend à 1/15.000.

Les remarques de Browning concernant l'influence, de l'état physique s'appliquent donc aussi aux champignons.

Ce phénomène peut d'ailleurs s'expliquer : le contact entre l'antiseptique et le champignon étant moins intime à la surface des géloses solidifiées qu'au sein d'un milieu liquide.

En clinique, Lortat-Jacob et Bidault obtinrent de bons résultats dans le traitement des épidermophyties. Le Sulfate Neutre d'O. Oxyquinoleine se révélait même plus efficace in vivo qu'in vitro, sans doute comme l'expliquent ces auteurs, en s'opposant au développement du champignon et en permettant ainsi à l'organisme de réagir par ses moyens de défense naturels.

De l'énoncé de ces différents travaux il ressort que le pouvoir inhibiteur :

1° Varie avec le germe et l'état physique du milieu.

2° Qu'en moyenne en milieu solide le seuil inhibiteur est dix fois moindre qu'en milieu liquide. Ce qui donne pour le Staphylocoque un taux voisin de 1/5000 et pour l'Epidermophyton inguinale 1/15.000.

III. Expériences personnelles :

Nous avons utilisé la solution hydroglycérinée à 33 % de Sulfate Neutre d'O. Oxyquinoleine.

Les chiffres que nous ferons figurer sur nos tableaux sont les concentrations des géloses en Sulfate Neutre.

Nous avons opéré de la façon suivante :

1) Comme pour le Formol, nous avons cherché à limiter nos recherches en calculant le seuil approximatif pour les champignons. Pour cela, nous avons ensemencé le S. audouini dans une série doublée, aux taux

suivants : 1/360, 1/180, 1/90, 1/45. Nous n'avons constaté aucun développement.

2) Le seuil se situe donc dans des concentrations plus faibles que nous allons rechercher. Les résultats figurent au tableau.

3) Des vérifications aux taux voisins du seuil ainsi découvert ont été effectuées ensuite.

4) Nous avons enfin recherché le seuil inhibiteur vis-à-vis du Staphylocoque.

Nous avons donc ensemencé 204 tubes de gélose avec les champignons dermatophytes.

Pour le Staphylocoque, nous avons réalisé trois séries de tubes c'est-à-dire au total 44 tubes.

Commentaires : Au cours de ces différentes expériences, nous avons fait les constatations suivantes :

1) Pour les champignons : Le seuil est apparu nettement mais l'extension des dermatophytes semble ralentie par la présence de l'antiseptique aux taux voisins du seuil. Par ordre de résistance croissante nous avons :

— Le T. violaceum qui ne pousse plus vers 1/15.000

— Le S. audouini vers 1/3600.

— Le T. (Achorion) schônleini vers 1/1800.

2) Pour le Staphylocoque : Nous plaçons le seuil inhibiteur à 1/3600. Ce chiffre est inférieur à celui trouvé par les divers auteurs mais nous savons qu'il faut tenir compte de la nature physique du milieu.

En conclusion, nous constatons que le Sulfate Neutre d'O. Oxyquinoleine ne nous permet pas la réalisation du milieu sélectif recherché les taux inhibiteurs étant trop voisins pour les champignons et le staphylocoque.

Ce produit se révèle néanmoins très supérieur au Formol.

EXPÉRIENCES AVEC LE SULFATE NEUTRE D'O. OXYQUINOLEINE

— : Aucun développement
± : Développement très faible
+ : Développement normal
. : Recherche non effectuée à ce taux

	Tém.	1/90	1/180	1/360	1/720	1/1440	1/1800	1/3600	1/7200	1/14400	1/28800	1/57600	1/115200	1/230400	1/460800	1/921600
S. Audouini	+	—	—	—	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
	+	—	—	—	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
	+	.	.	.	.	.	—	±	+	+	+	+	+	+	+	+
	+	.	.	.	.	.	—	—	+	±	+	+	+	+	+	+
	+	.	—	—	+	+	—	—	+	+	+	+	.	.	.	.
	+	.	—	—	+	+	—	—	+	+	+	+	.	.	.	.
T. violaceum	+	.	—	—	—	—	—	—	—	—	+	+	+	+	+	+
	+	.	—	—	—	—	—	—	—	—	+	+	+	+	±	+
	+	.	.	.	.	.	—	—	—	—	+	+	+	+	+	.
	+	.	.	.	.	.	—	—	—	—	—	+	+	—	+	.
	+	.	—	—	—	—	—	—	—	—	±	+	+	+	+	.
	+	.	—	—	—	—	—	—	—	—	+	+	+	+	+	.
T. (achorion) Schonleini	+	.	—	—	—	—	—	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	+	.	—	—	—	—	—	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	+	.	—	—	—	—	—	+	+	+	+	+	.	.	.	.
	+	.	—	—	—	—	—	+	+	±	+	+	.	.	.	.
	+	.	—	—	—	—	—	+	+	+	+	+	.	.	.	.
	+	.	—	—	—	—	—	±	+	+	+	+	.	.	.	.
Seuil inhibiteur pour les divers auteurs: 1/5000 (en milieu solide)																
Staphylocoque. Expériences personnelles	+	.	.	.	.	.	—	—	+	+	+	+	+	+	+	+
	+	.	.	.	.	.	—	—	+	+	+	+	+	+	+	+
	+	.	.	.	.	.	—	—	∓	+	+	+	+	+	+	+
	+	.	.	.	.	.	—	—	∓	+	+	+	+	+	+	+

CHAPITRE VI

Expériences avec l'acide Ethylmercurithiosalicylique

Nous insisterons particulièrement sur ce produit bien connu en Amérique sous le nom de « Merthiolate » et d'emploi, relativement récent en France. Il est doué de propriétés qui font de lui un antiseptique à peu près idéal. Nos expériences témoignent de sa grande supériorité sur les autres produits utilisés.

I° PROPRIETES GENERALES DE L'ACIDE ETHYLMERCURITHIOSALICYLIQUE.

A) Chimie :

Nous avons utilisé une solution à 1 pour 1.000 d'un sel de monoéthanolamine de l'acide éthylmercurithiosalicylique, artificiellement et légèrement colorée par l'hydroxymercuridibromofluorescéine.

L'acide éthylmercurithiosalicylique, puissant antiseptique mercuriel est préconisé depuis une trentaine d'années dans la pharmacopée américaine.

Sa formule est la suivante :
C2. H5. Hg5. C6. H4. COOH.
Le mercure est inclus dans la molécule dont il fait partie intégrante.
C'est un produit résultant de la condensation de l'hydroxyde d'éthylmercure :
(C2. H5. HgOH.)
avec l'acide thiosalicylique :
(H5. C6. H4. COOH)

Les composés de l'acide ethylmercurithiosalicylique ont été découverts en Amérique par le Laboratoire de recherches de Lilly en collaboration avec le Dr. Kharasch de l'Université de Chicago. Ils ont réalisé la synthèse de plus de vingt composés du type :

R1—Hg—S—R2

(R1 étant un radical organique ayant un carbone lié directement au Hg et R2 un radical contenant un groupement acide capable de former dans l'eau un sel de sodium soluble.)

Le sel de sodium de l'acide ethylmercurithiosalicylique (Merthiolate) a pour formule :

C2. H5. Hg. S.C6. H4. CO2 Na.

Pour obtenir ce sel, on fait agir le chlorure d'ethylmercure sur l'acide thiosalicylique en présence de soude.

$$C2.\ H5.\ Hg + C\ 6\ H4 \begin{cases} CO2H. \\ SH2. \end{cases} = C\ 6.\ H4 \begin{cases} CO\ 2H. \\ S.\ Hg\ C\ 2H5. \end{cases}$$

Le sel d'éthanolamine de l'acide éthylmercurithiosalicylique est aujourd'hui fabriqué en France. C'est ce produit que nous avons utilisé.

B) Propriétés :

a) *Aspect.* L'acide ethylmercurithiosalicylique se présente sous forme d'une poudre cristallisée de couleur crème légèrement odorante. Son point de fusion est de 110°5—111°. Il contient 52,35% de mercure. Son sel de solium n'en contient que 49%.

b) *Solubilité* : L'acide ethylmercurithiosalicylique à l'état acide est complètement insoluble dans l'eau, peu soluble dans l'alcool froid, très soluble dans l'alcool bouillant.

Les sels de sodium et d'éthanolamine sont très solubles dans l'eau, le sérum et les solvants organiques et biologiques ordinaires. Ils donnent alors des solutions très peu colorées ne tâchant pas.

c) *Stabilité* : Les solutions des sels de sodium sont stables à l'air mais très instables à la lumière. Elles s'oxydent en donnant un précipité d'oxyde de mercure.

Les sels d'ethanolamine et particulièrement de monoethanolamine sont plus stables, mais il est recommandé néanmoins de conserver ces solutions à l'abri de la lumière. On peut aussi, pour avoir une solution stable, ajouter des antioxydants tels que les amines aliphatiques hydrosolubles. Il faut également maintenir un pH compris entre 8 et 10 pour éviter la précipitation de l'acide.

d) *Toxicité* : Les essais de toxicité sur l'animal montrent que l'acide ethylmercurithiosalicylique est très peu toxique.

Le lapin supporte jusqu'à 25 milligrammes ; le rat 15 mg ; la souris 100 mg.

M. S. Marshall relate même des essais pratiqués chez l'homme en injection intra-veineuse au 1/100 sans aucun accident.

Raphaël Buchebaun et W. Bloom expérimentant sur des cultures d'embryon de poulet observent la très faible toxicité de l'acide ethylmercurithiosalicylique et de ses composés par rapport aux autres antiseptiques.

e) *Action sur les tissus :* le Merthiolate ne possède aucune action irritante sur les tissus vivants, ce qui en fait un antiseptique idéal.

Cette propriété a été recherchée expérimentalement par H. M. Marks et Coll. Ils ont comparé l'action destructive des différents antiseptiques connus et montré que l'acide ethylmercurithiosalicylique et ses sels n'altèrent pour ainsi dire pas le développement des cellules.

D'autres auteurs ont utilisé cette propriété au laboratoire et constaté que ces corps conservent les milieux biologiques (vaccins, sérums, toxines et antitoxines.)

La préservation de ces substances est parfaite et aucun phénomène de précipitation, de décoloration du milieu ou de diminution du pouvoir antiseptique n'est observé. (Marschall). On l'emploie à une concentration de 1/10.000. pour la conservation des sérums.

Ce corps en solution légèrement alcaline n'est pas hémolytique. C'est un excellent conservateur des échantillons sanguins.

Son utilisation en chirurgie a suivi de près et il est employé pour la conservation des greffes osseuses et cutanées.

II. DETERMINATIONS ANTERIEURES DU POUVOIR INHIBITEUR DE L'ACIDE ETHYLMERCURITHIOSALICYLIQUE SUR LES BACTERIES ET SUR LES CHAMPIGNONS.

L'acide éthylmercurithiosalicylique s'est révélé comme un antiseptique de grande valeur. Cette propriété résulte de la combinaison des pouvoirs antiseptiques d'un dérivé mercuriel (hydroxyde d'ethylmercure) avec celui d'un composé soufré (acide thiosalicylique).

D'autre part, les auteurs américains montrent que les composés organiqeus mercuriels ont une action antiseptique qui dépend largement de leur solubilité dans l'eau et de leur stabilité.

Reddish a prouvé que l'action du Merthiolate sur les bactéries n'est pas diminuée en présence de matières organiques, d'eau ou de sérum.

Nous allons rechercher dans la littérature américaine quelques renseignements sur la valeur antiseptique du Merthiolate.

1° Action sur les bactéries.

C. R. Falk et S. P. Aplington ont comparé l'activité de l'acide éthylmercurithiosalicylique, de ses sels, et du phénol sur les bacilles diphtériques, le staphylocoque, et le bacille pyocyanique en solution saline et en présence de sérum.

Nous ne retiendrons que les résultats obtenus sur le staphylocoque. L'acide éthylmercurithiosalicylique et ses sels possèdent une activité de 40 à 160 fois supérieure à celle du phénol, quelque soit la température et le milieu.

Les chiffres donnés par H. M. Powel et W. A. Jamieson concordent sensiblement : 40 à 50 fois plus actif que le phénol sur le staphylocoque doré. Ils donnent également le pouvoir bactéricide qui est de 1/140.000.

Ces auteurs fixent le pouvoir inhibiteur du merthiolate aux environs de 1/500.000 à 1/1.000.000.

J. H. Waldo, H. A. Shonie et H. M. Powell, constatent que ce pouvoir inhibiteur pour le staphylocoque doré est de 1/3.000.000 à la 24me heure puis 1/2.000.000 au bout de 48 heures pour aboutir à 1/1.000.000 à la 72me heure. Ces expériences ont été pratiquées sur sérum.

Marshall nous apprend qu'une concentration de 1/1.000.000 empêche le développement des bactéries ordinaires sur milieu sérique. L'inhibition du staphylocoque se fait à 1/40.000. Mais sur gélose ce taux descend à 1/5.000.000.

Thomas B. Haggath relate que des milieux composés de gélose nutritive contenant 5 % de sérum humain étaient encore aseptiques 24 heures après que leur surface ait été badigeonnée avec une solution d'un sel de l'acide éthylmercurithiosalicylique. Ceci démontre la permanence de l'action antiseptique.

2° Action sur les champignons :

Le Merthiolate ne semble pas avoir été beaucoup étudié à ce point de vue.

Seul un travail de R. T. Legge, A. L. Bonnar et H. J. Templeton nous donne un aperçu de son action antifungique. Ces auteurs étudiant des cas d'épidermomycoses survenus parmi les étudiants de l'Université de Californie, ont essayé divers antiseptiques in vitro : utilisant une suspension de spores de Trichophyton interdigitale ils nous indiquent la supériorité des sels de l'acide éthylmercurithiosalicylique. Le pouvoir fungicide est de 1/10.000 après un contact de 5 minutes à la température de 22° C.

Marshall trouve approximativement le même chiffre. Il nous apprend en outre qu'une souche de Penicillium cultivé sur gélose est inhibée à une concentration de 1/10.000 et fortement ralentie à 1/100.000.

P. Vayssières et Mlle Salignon constatent l'efficacité de ce produit dans le traitement des mycoses vulvo-vaginales.

Nous n'avons donc que très peu de renseignements sur cette action antifungique. Toutefois il n'est pas étonnant de constater la grande activité antifungique de l'acide éthylmercurithiosalicylique, qui est probablement due à la présence dans sa molécule d'éléments fungicides : Le mercure, l'acide salicylique, le Soufre.

A ce propos Suenderhauf dans sa thèse, compare l'action de très nombreux produits fungicides et conclue à la supériorité du Mercure-phénol-disulfonate de sodium, où nous retrouvons encore l'élément mercuriel.

De l'énoncé de toutes ces expériences nous retiendrons donc les chiffres suivants : En moyenne :

1/100.000 pour le seuil inhibiteur vis-à-vis des germatophytes.

1/100.000 pour le seuil inhibiteur vis à vis des germes microbiens.

III. — EXPERIENCES PERSONNELLES

Nous avons utilisé la solution à 1/1.000 d'un sel d'éthanolamine de l'acide éthylmercurithiosalicylique.

A) Pour les champignons :

1) Comme avec les produits précédents, nous avons d'abord cherché à limiter nos recherches. Pour cela, nous avons réalisé une gamme descendante de géloses avec :

1/120.000 ; 1/60.000 ; 1/30.000 ; 1/15.000 ; de produit actif. le S. audouini ensemencé n'a pas poussé.

2) Nous avons donc recherché le seuil à des concentrations moindres, et nous avons obtenu les résultats figurant au tableau.

3) Pour vérifier ces résultats, nous avons fait plusieurs essais aux concentrations voisines du seuil précédemment trouvé.

A chacune des expériences nous doublons les tubes.

Tous les résultats de ces essais, sont indiqués dans le tableau.

B) Pour le Staphylocoque :

Nous avons réalisé quatre séries d'ensemencements. Les chiffres figurant au tableau témoignent de la grande efficacité de l'acide éthylmercurithiosalicylique. Le grand écart qui sépare les pouvoirs inhibiteurs vis-à-vis du Staphylocoque, nous permet d'espérer pouvoir réaliser avec ce produit le milieu se rapprochant le plus du milieu recherché.

Contrairement aux autres antiseptiques utilisés, l'acide éthylmercurithiosalicylique mérite donc d'être expérimenté sur les autres souillures.

C) Expériences complémentaires sur les autres souillures.

Il faut tout d'abord signaler que ces souillures sont beaucoup moins fréquentes que le staphylocoque.

1° **Le Bacillus Subtilis :** Nous avons réalisé quatre séries d'ensemencements.

2° **Les Levures :** Pour le Candida albicans, nous avons réalisé quatre séries d'ensemencements.

3° **Les champignons du genre Penicillium :** Nous avons pratiqué quatre séries d'ensemencements.

Nous indiquons tous les résultats sur le tableau.

COMMENTAIRES SUR LES EXPERIENCES REALISEES AVEC L'ACIDE ETHYLMERCURITHIOSALICYLIQUE

1° **Pour les champignons :** Le seuil a été obtenu aisément sauf pour le T. violaceum. Nous avons simplement remarqué un ralentissement très net dans l'extension des souches aux taux voisins du seuil. Nous obtenons toujours la même hiérarchie dans la résistance des différents champignons : il faut une concentration de 1/480.000 pour empêcher le développement du T. violaceum ; 1/120.000 pour le S. audouini et 1/30.000 pour le T. (achorion) schônleini.

2° **Pour les souillures :** le seuil est également obtenu très nettement. Il varie avec les différents microorganismes. Le seuil inhibiteur est de 1/1.200.000 pour le Staphylocoque ; 1/120.000 pour le B. subtilis ; et les Levures ; 1/60.000 pour le Penicillium.

A la lumière de ces résultats, nous constatons que l'acide éthylmercurithiosalicylique est une drogue très puissante en comparaison des deux autres antiseptiques utilisés. S'il nous permet de protéger les cultures contre

le staphylocoque, souillure de loin la plus fréquente, il ne nous est malheureusement d'aucun secours contre les autres souillures.

Nous aurons pu néanmoins constater son activité antifungique bien supérieure à celle des autres antiseptiques.

Conclusions

Nous avons cherché à réaliser, à l'aide d'antiseptiques variés, un milieu d'isolement pour les champignons dermatophytes dont la culture est fréquemment entravée par la présence d'éléments de souillure.

Pour cela, il nous fallait faire une étude comparative des pouvoirs inhibiteurs des produits employés, vis-à-vis des champignons et des bactéries, et trouver un antiseptique qui, à une concentration donnée permette le développement de la souche mycosique à isoler tout en inhibant celui des souillures.

Les résultats de nos expériences pratiquées sur trois dermatophytes (Sabouraudites audouini, Trichophyton violaceum, Achorion schônleini) et leurs souillures habituelles (Staphylocoques, B. subtilis, Levures, et Penicilliumà à l'aide de trois antiseptiques (Formol, Sulfate Neutre d'O. Oxyquinoleine et Acide Ethylmercurithiosalicylique) nous permettent de tirer les conclusions suivantes :

1° Avec tous les antiseptiques utilisés, le seuil inhibiteur est obtenu de façon relativement nette, bien que l'on observe au voisinage du seuil un ralentissement de l'expansion des champignons. Il existe une hiérarchie dans la résistance des différentes espèces : par ordre de résistance croissante, le T. violaceum, le S audouini, le T. (achorion) schonleini.

2° Le Formol et le Sulfate Neutre d'O. Oxyquinoleine ne nous permettent pas la réalisation du milieu recherché, les seuls inhibiteurs des champignons et du Staphylocoque étant trop voisins.

3° L'Acide Ethylmercurithiosalicylique remplit une partie des conditions requises pour la réalisation du milieu d'isolement sélectif. Il nous permet en effet, de combattre très efficacement le Staphylocoque, germe de souillure de beaucoup le plus fréquent ; mais ne nous est d'aucun secours contre les autres souillures.

Il sera néanmoins incorporé avec profit à la dose de 1/960.000 dans les milieux de culture qu'il débarrassera des staphylocoques, principal élément gênant pour le développement des souches.

Cependant, si, par rapport à l'action antibactérienne, l'action antifungique de l'acide Ethylmercurithiosalicylique est relativement faible, elle est par contre remarquablement élevée en comparaison de celle des autres antiseptiques. Il serait donc intéressant d'utiliser ce corps, à des doses suffisantes dans des essais thérapeutiques, étant donné son inocuité à peu près absolue vis-à-vis des tissus vivants, à l'inverse de nombreux autres composés mercuriels.

Sa valeur antiseptique, la rapidité et la permanence de son action, son manque de propriétés irritantes, son pouvoir de cicatrisation font de ce produit un antiseptique à peu près idéal qui mérite d'être encore plus connu en France.

———

Bibliographie

1. BIDAULT. — « Les champignons inférieurs ». C. R. Soc. Biologie, t. XXXV, 1921, p. 1.005.
2. BONNEMA. — « Ueber Quinosol, Ein neues Antisepticum ». Thérapeutische Manatshefte, 1.896, p. 663.
3. BOXHALL (G. N.), F. C. HAPPOLD et L. LOYD. — Parasitology XXVI, 1934, pp. 44-48.
4. BREAVOINE (J.). — L'acide éthylmercurithiosalicylique en thérapeutique. Thèse Doctorat en Médecine, Paris, Février 1948.
5. BROCQ, ROUSSEU, URBAIN et BAROTTE. — Etude sur les teignes du cheval (Revue Vétérinaire Militaire : X. 1926, pp. 356, 376.
6. BROWN O'CONNOR (Gérald). — « Merthiolate » : Tissue Preservative Antiseptique. Americ. Journal of Surgery, July 1939, vol. 45, p. 563.
7. BRUERE (P.). — Quinoleine, Quinosol et Sunoxol, Yatrène. Bulletin de l'Association des Docteurs en Pharmacie des Universités de France, T. XVI, 1927, p. 134.
8. BUCHEBAUM (Raphaël) et W. BLOOM. — Relative toxicity of Antiseptics on Bacteria and Tissues in cultures. Proceedings of the Society for the Exp. Biology and Medicine, oct. 1931, vol. 28, p. 106.
9. CARPENTIER, GUILLOT, COURTADE. — Annales parasitologie XVI, 1938, p. 159.
10. CARRICK. — Methods of local Therapy for Tinea Capitis due to Microsporon audouini. J. A. M. A. 1946, 131, pp. 1.189-1.194.
11. CHAVATTE. — Recherches expérimentales et cliniques sur le sulfate neutre d'O.-oxyquinoleine. (Thèse docteur vétérinaire, Paris, 1933.)
12. CH'IN (T. L.). — Proc. Soc. Exp. Biol. XXXVIII, 1938, p. 700.
13. CHURCHMANN. — Journal exp. Med., tome XVI, 1912, pages 221 à 248.
    Tome XXXIII, 1921, pp. 569 à 582.
    Soc. Exp. Biol. Med. Proc. Tome XVIII. 1920.
14. DEVOUASSOUX (Jacques). — Thèse 1903. « De l'action du formol et de quelques autres substances antiseptiques pour la conservation des sérums. »

15. DESSAIGNES (Mlle). — Contribution à l'étude du pouvoir infertilisant du Sunoxol vis-à-vis de quelques microbes pathogènes. (Thèse doctorat en pharmacie, Lyon 1935.)

16. FALK (C. R.) et S. P. APLINGTON. — Studies on the Bactericidal Action of phenol and Merthiolate used alone and mixtures. Amer. Journ. of Hygiene, 1936, n° 31, pages 8 et 9.

17. FARLEY (D. L.). — Archives of Dermatol. and Syphiligraphy. II. 1920, pages 459-465.

18. FOURNEAU C. R. de la conférence Internationale de Chimie, Bucarest, juin 1925.

19. GAYRAUD. — « L'action antiseptique du Sulfate Neutre d'O. Oxyquinoleine vis-à-vis du bacille de Löffler. Thèse Pharmacie, Montpellier, 1935.

20. GRETCHEN et SICKLES. — The effects of Phenol and Merthiolate on the antigenic potency of purified diphteria toxoids. Journ. of Bact. 1937, n° 38, p. 644.

21. HARRIS A., MAHONEY J. F. — Merthiolate as effective Bacteriostatic Agent in spinal fluid specimens. Veneral Disease Information, n° 25., Fév. 1944-46.

22. HEUBNER et SIEGEL. — Klin. Wochensch. 1926, n° 35.

23. JAMIESON (W. A.) et H. M. POWELL. — Merthiolate is a preservative for biological products. Amer. Journ. of Hygiene. July 1931, vol. 14, n° 1, p. 218.

24. LANGERON. — Précis de Mycologie. Masson 1945. 1re édition.

25. LEBASQUE. — Les champignons des teignes du cheval et des bovidés.

— Thèse Fac. de Sciences de Paris 1933, p. 132, cf. p. 32-36.

— Annales de Parasitol. XII. 1934, p. 418.

26. LEGGE (R. T.), A. L. BONAR. and H. J. TEMPLETON. — Epidermomycosis at the University of California. Arch. Derm. et Syphil. 1933, n° 27, p. 12.

27. LIESE (Dr. W.). — Zentralblatt f. Bacteriologie u. Parasitenk, 1927-28, t. 105, p. 137.

28. LORTAT-JACOB et BIDAULT. — « Essais sur l'emploi du quinosol dans la thérapeutique des épidermophyties. » Presse médicale, n° 4 du 12-1-27.

29. MARKS (H.M.), H.M. POWELL, W.A. JAMIESON. — Merthiolate as a skin desinfecting agent. Journ. of Laboratory and clin. med. Vol. 17, n° 1, oct. 1931.

30. MARKS (H. M.) et COLL. — J. labor. Clin. Med. 1932, 17, 443, 449.

31. MARSHALL (M.S.) et A.K. KRENOFF. — Bactériostasis. — The journ. of infect. diseases. 1937, n° 67, p. 42.

32. MARSHALL (M. S.). — The Merthiolate. A new antiseptiq. California and western Medicine, 1931, vol. 35, p. [illegible].

33. MELIN (E.). — Svensk. Bot. Tidskr. XXVI, 1932, pages 327-332. in Langeron. Précis de Mycologie, 1re édition. Masson 1945, p. 497.

34. MERTHIOLATE (LE). — News and Nonofficial Reme- 1945, p. 148.

35. MOORE. — Ann. Missouri. bot. garden. XX 1933, pp. 323-543.

36. OLIVIERA (DE) et PEREZ (J. R.). — C. R. de la Soc. de Biologie. Séance du 8 juillet 1912, p. 413-414.

37. POENARU. — Un procédé rapide d'isolement du Trichophyton chez les animaux. Archiva Veterinaria 1930, n° 3-6, page 96.

38. POWEL (H.M.) et JAMESION. — Merthiolate as a germicide. Journ. Amer. of Hygiene. Janv. 1931. Vol. 13. N° 1, p. 296.

39. ROBINSON. — In vitro studies of Microsporum audouini. Infection on the hair. Arch of Derm. and Syphil. 1948, p. 991.

40. ROSENSTEIN et LEVIS. — The Bactericidal and antiseptic Action of Preservatives frequently used in biological products and the effect of these preservatives on the potenties of the products. Journ. of Bact. 1935, n° 29, page 6.

41. SALLE J. et LATZARUS A. S. — A comparaison of the resistance on bacteria and embryonic tissue to germicidal substances. Proc. of the Society for Exp. Biol. et Med. Féb. 1935, n° 32, p. 665.

42. SALMON (A.R.). — Nouveaux Antiseptiques Mercuriels. Entretiens de Bichat 1947, p. 21.

43. SMITH et CZARNETZKY et MUDD. — Evaluation of mercurial antiseptics in the presence of sérum. Jour. of Bact. 1936, n° 31, p. 7.

44. SUENDERHAUF (Benno). « Etude de produits fungicides nouveaux ». (Thèse de Pharmacie de Strasbourg, 1950).

45. VAN WINKELE et CHRISTIANSEN (W.). — Journ. Amer. Pharm. Assoc. 1929, t. XXVIII, p. 794.

46. VAYSSIERES et Andrée SALIGNON. — « Le Merseptyl dans les mycoses vulvo vaginales ». Bulletin de l'Association des Gynécologues et obstétriciens de Langue Française. Suppl. tome 2, n° 2, 1950, Masson et Cie, édit., page 198.

47. WALDO (J.H.), SHONIE (H.A.), POWELL (H.M.). — The bacteriological Evaluation of some new water soluble Organo-Mercury Compounds. Journ. of Bact., vol. 21, n° 5, Mai 1931, p. 323.

Serment d'Hippocrate

En présence des Maîtres de cette Faculté, de mes chers Condisciples, devant l'effigie d'Hippocrate.

Je promets et je jure au nom de l'être suprême, d'être fidèle aux lois de l'honneur et de la probité dans l'exercice de la Médecine.

Je donnerai mes soins gratuits à l'indigent et n'exigerai jamais un salaire au-dessus de mon travail ; je ne participerai à aucun partage clandestin d'honoraires.

Admis dans l'intérieur des maisons mes yeux ne verront pas ce qui s'y passe, ma langue taira les secrets qui me seront confiés et mon état ne servira pas à corrompre les mœurs ni à favoriser le crime.

Je ne permettrai pas que des considératons de religion, de nation, de race, de parti ou de classe sociale viennent s'interposer entre mon devoir et mon patient.

Je garderai le respect absolu de la vie humaine, dès la conception.

Même sous la menace, je n'admettrai pas de faire usage de mes connaissances médicales contre les lois de l'humanité.

Respectueux et reconnaissant envers mes maîtres, je rendrai à leurs enfants l'instruction que j'ai reçue de leur père.

Que les hommes m'accordent leur estime si je suis fidèle à mes promesses.

Que je sois couvert d'opprobre et méprisé de mes confrères si j'y manque.